



Europäisches
Patentamt

European
Patent Office

Office européen
des brevets

Rec'd PCT/PTO 21 APR 2005

REC'D 23 JAN 2004

WIPO

PCT

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterla-
gen stimmen mit der
ursprünglich eingereichten
Fassung der auf dem näch-
sten Blatt bezeichneten
europäischen Patentanmel-
dung überein.

The attached documents
are exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à
cette attestation sont
conformes à la version
initialement déposée de
la demande de brevet
européen spécifiée à la
page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

02356210.1

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Der Präsident des Europäischen Patentamts;
im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

R C van Dijk

BEST AVAILABLE COPY



Anmeldung Nr:
Application no.: 02356210.1
Demande no:

Anmeldetag:
Date of filing: 24.10.02
Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Bayer CropScience SA
55, avenue René Cassin,
CP 106
69266 Lyon Cedex 09
FRANCE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention:
(Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung.
If no title is shown please refer to the description.
Si aucun titre n'est indiqué se référer à la description.)

Nouveaux médicaments antifongiques

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s)
revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/
Classification internationale des brevets:

A61K31/00

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten/Contracting states designated at date of
filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE SK TR

MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES À BASE DE DÉRIVÉS D'ARYLAMIDINE

La présente invention a pour objet de nouveaux médicaments antifongiques.

5 Plus précisément, la présente invention a pour objet de nouveaux médicaments antifongiques à base de dérivés de N₂-phénylamidine et éventuellement d'au moins un agent synergique anti-fongique.

Par médicament antifongique, on entend une composition pharmaceutique destinée à être administrée à un humain ou un animal.

10 La demande internationale WO-00/46184 décrit un ou plusieurs dérivés de N₂-phénylamidine. De tels composés sont utilisés dans le domaine agricole comme composés fongicides.

La société demanderesse a mis en évidence de façon tout à fait inattendue que les dérivés de N₂-phénylamidine constituaient également des composés antifongiques de choix, tant chez l'être humain que chez l'animal.

15 Aussi, l'un des objectifs essentiels de la présente invention est de fournir un nouveau médicament antifongique à base de dérivés de N₂-phénylamidine.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir un nouveau médicament antifongique tout à fait performant, notamment en ce qui concerne son efficacité contre les champignons.

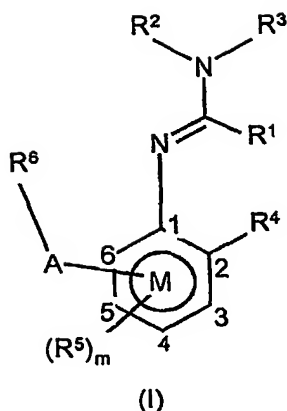
20 Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir un nouveau médicament fongicide combinant de façon synergique au moins un dérivés de N₂-phénylamidine et au moins un autre composé connu comme ayant une activité antifongique chez l'être humain ou chez l'animal.

25 Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir un nouveau médicament antifongique à large spectre.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de proposer un nouveau médicament antifongique telle que défini dans les objectifs ci-dessus et utile dans le traitement préventif et curatif des maladies fongiques, notamment les infections à *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*.

30 Tous ces objectifs, parmi d'autres, ont été atteints par les inventeurs qui ont eu le mérite de trouver que les dérivés de N₂-phénylamidine présentaient de manière surprenante et inattendue une efficacité antifongique très importante et pérenne contre un large spectre d'agents infectieux à l'encontre de l'être humain ou de l'animal.

35 La présente invention qui satisfait en totalité ou en partie aux susdits objectifs, concerne donc en premier lieu un médicament antifongique caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule (I) :



dans laquelle :

- R^1 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou l'hydrogène;
- R^2 et R^3 , qui peuvent être identiques ou différents, sont l'un quelconque des groupements définiss pour R^1 ; un cyano; un acyle; $-OR^a$ ou $-SR^a$, avec R^a correspondant à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou R^2 et R^3 , ou R^2 et R^1 peuvent former ensemble et avec les atomes qui les relient, un cycle pouvant être substitué;
- R^4 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un groupement hydroxyle; mercapto; azido; nitro; halogène; cyano; acyle substitué ou non substitué, amino; cyanato; thiocyanato; $-SF_5$; $-OR^a$; $-SR^a$ ou $-Si(R^a)_3$;
- $m = 0, 1, 2$ ou 3 ;
- l'éventuel R^5 ou les éventuels R^5 , qui peuvent être identiques ou différents entre eux, répondent à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^4 ;
- R^6 est un groupement carbocyclique ou hétérocyclique substitué ou non substitué; et
- A est une liaison directe, $-O-$, $-S(O)_n-$, $-NR^9-$, $-CR^7=CR^7-$, $-C\equiv C-$, $-A^1-$, $-A^1-A^1-$, $-O-(A^1)_k-O-$, $-O-(A^1)_k-$, $-A^3-$, $-A^4-$, $-A^1O-$, $-A^1S(O)_n-$, $-A^2-$, OA^2- , $-NR^9A^2-$, $-OA^2-A^1-$, $-OA^2-C(R^7)=C(R^8)-$, $-S(O)_nA^1-$, $-A^1-A^4-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-$, $-A^1-A^4-A^3-$, $-A^1-A^4-N(R^9)-$, $-A^1-A^4-X-CH_2-$, $-A^1-A^4-A^1-$, $-A^1-A^4-CH_2X-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-X^1-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-N(R^9)-$, $-A^1-X-A^1-X^1-$, $-A^1-O-A^3-$, $-A^1-O-C(R^7)=C(R^8)-$, $-A^1-O-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$, $-A^1-O-N(R^9)-A^2-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-$, $-A^1-N(R^9)-N=C(R^8)-$, $-A^3-A^1-$, $-A^4-A^3-$, $-A^2-NR^9-$,

-A¹-A²-X¹-, -A¹-A¹-A²-X¹-, -O-A²-N(R⁹)-A²-, -CR⁷=CR⁷-A²-X¹-,
 -C≡C-A²-X¹-, -N=C(R⁸)-A²-X¹-, -C(R⁸)=N-N=C(R⁸)-,
 -C(R⁸)=N-N(R⁹)-, -(CH₂)₂-O-N=C(R⁸)- ou -X-A²-N(R⁹)-

avec

5 n = 0, 1 ou 2,

k = 1 à 9,

A¹ = -CHR⁷-,

A² = -C(=X)-,

A³ = -C(R⁸)=N-O-,

10 A⁴ = -O-N=C(R⁸)-,

X = O ou S,

X¹ = O, S, NR⁹ ou une liaison directe,

X² = O, NR⁹ ou une liaison directe,

X³ = hydrogène, -C(=O)-, -SO₂- ou une liaison directe,

15 R⁷, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un cycloalkyle ou un phényle, chacun de ces groupements pouvant être substitué, l'hydrogène, un halogène, un cyano, ou un acyle;

R⁸, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un alcoxy, un alkylthio, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un
 20 groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou l'hydrogène;

R⁹, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou à un acyle; ou deux groupements R⁹ peuvent former ensemble et
 25 avec les atomes qui les relie, un cycle à 5-7 chaînons;

le groupement représenté sur le côté droit de la liaison A est relié à R⁶;

ou -A-R⁶ et R⁵ forment ensemble avec le cycle benzène M, un système de cycles condensés substitués ou non substitués;

30

▪ ainsi que les éventuels isomères optiques et/ou géométriques, tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, acceptables dans le domaine pharmaceutique, de ces dérivés de formule (I);

▪ et leurs mélanges.

35

Dans les définitions des composés de formule (I) exposés ci-dessus, les différents radicaux et termes chimiques employés ont, sauf précision contraire, les significations suivantes :

- "alkyle" ou alkyl-" désigne un radical hydrocarboné saturé, linéaire ou ramifié, contenant de 1 à 8 atomes de carbone ;
- "alcényle" désigne un radical hydrocarboné, linéaire ou ramifié, contenant de 1 à 8 atomes de carbone et au moins une insaturation sous forme de double liaison ;
- 5 • "alcynyle" désigne un radical hydrocarboné, linéaire ou ramifié, contenant de 1 à 8 atomes de carbone et au moins une insaturation sous forme de triple liaison ;
- "alcoxy" désigne un radical alkyl-oxy ;
- "acyle" désigne le radical formyle ou un radical alcoxycarbonyle ;
- 10 • "cycloalkyle" désigne un radical hydrocarboné cyclique saturé, contenant de 3 à 8 atomes de carbone ;
- "haloalkyle" ou haloalkyl-" désigne un radical hydrocarboné saturé, linéaire ou ramifié, contenant de 1 à 8 atomes de carbone et substitué par un plusieurs atomes d'halogène, en particulier le fluor, le chlore et le brome ;
- "aryle" désigne un radical ou plusieurs radicaux aromatiques, de préférence, un phényle ou un naphtyle ;
- 15 • "hétérocycle" désigne un radical cyclique, insaturé ou totalement ou partiellement saturé, contenant de 3 à 8 atomes, choisis parmi carbone, azote, soufre et oxygène, par exemple et de manière non limitative, pyridyle, pyridinyle, quinolyne, furyle, thiényne, pyrrolyle, oxazolinyle ;
- 20 • le terme "substitué ou non substitué" signifie que les radicaux ainsi qualifiés peuvent être substitués par un ou plusieurs radicaux choisis parmi chlore, brome, fluor, iode, alkyle, alcoxy, hydroxy, nitro, amino; cyano et acyle.

25 Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, les produits (I) correspondent à la formule (I) dans laquelle :

- R^1 est un alkyle, un alcényle ou un alcynyle, chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol par un halogène, ou l'hydrogène;

- 30 • R^2 et R^3 qui peuvent être identiques ou différents et qui répondent à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^1 ou qui correspondent à un alcoxy, un alcoxylalkyle, un benzyloxy, un cyano ou un alkylcarbonyle;

- 35 • R^4 est un alkyle, un alcényle ou un alcynyle, chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol

ou par un halogène; un hydroxyle; un halogène; un cyano; un acyle (de préférence : $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{C}}$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^{\text{C}}$ ou $-\text{S}(\text{O})_p\text{R}^{\text{C}}$, avec R^{C} correspondant à un alkyle, un haloalkyle, alcoxy, haloalcoxy, alkylthiol, une amine, une monoalkylamine, une dialkylamine ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, ou par un alkylthiol;

- 5
- $m = 0$ ou 1 ;
 - quand il est présent, R^5 est un groupement répondant à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^4 ,

- A est une liaison directe, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NR}^9-$, $-\text{CHR}^7-$ ou $-\text{O}-\text{CHR}^7-$, avec R^9 , quand il est présent correspondant à un alkyle, un alcényle ou un alcynyle,
- 10 chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol ou par un halogène, ou correspond à l'hydrogène;

et R^7 répond à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^9 ou représente un hydroxyle; un halogène; un cyano; un acyle; alcoxy; un haloalcoxy ou un alkylthiol;

- 15
- A est relié à la position 4 du cycle benzène M; et
 - R^6 est un phényle ou un hétérocycle aromatique, substitué ou non substitué par un ou plusieurs substituants, identiques ou différents entre eux, et qui peuvent être sélectionnés dans la liste suivante: hydroxyle; halogène; cyano; acyle (de préférence $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{C}}$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^{\text{C}}$ ou $-\text{S}(\text{O})_p\text{R}^{\text{C}}$, avec $\text{R}^{\text{C}} =$ alkyle, haloalkyle, alcoxy, haloalcoxy, alkylthiol ou phényle substitué ou non
- 20 substitué par un alkyle, haloalkyle, alcoxy, haloalcoxy ou alkylthiol); amine; alkylamine; dialkylamine; alkyle, haloalkyle, $\text{R}^{\text{a}}\text{O}$ -alkyle, acyloxyalkyle, cyanoxyalkyle, alcoxy; haloalcoxy; alkylthiol; cycloalkyle (de préférence cyclohexyle ou cyclopentyle) substitué ou non substitué par un alkyle, un haloalkyle, un alcoxy, un haloalcoxy ou par un alkylthiol; et benzyle substitué ou non substitué par un alkyle, un haloalkyle, un alcoxy, un haloalcoxy ou par un alkylthiol.

- 25 Les composés de formule (I) encore plus spécialement préférés sont ceux possédant les caractéristiques suivantes, prises isolément ou en combinaison :

$\text{R}^1 = \text{H}$

$\text{R}^2 =$ alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_6$, de préférence éthyle;

$\text{R}^3 =$ alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_6$, de préférence méthyle;

- 30 $\text{R}^4 =$ alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_6$, de préférence méthyle;

$\text{R}^5 =$ alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_6$, de préférence méthyle et R^5 est relié au carbone en C_5 du cycle benzyle M, avec $m=1$;

A est relié au carbone en C_4 du cycle benzyle M et représente $-\text{O}-$;

- 35 $\text{R}^6 =$ aryle, de préférence benzyle, avantageusement substitué par au moins un alkyle et/ou par au moins un halogène ou au moins un groupement cyano.

A titre d'exemple, les composés (I) mis en œuvre sont, entre autres :

- le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N'*-[4-(4-chloro-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]-imidoformamide,

- et/ou le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N'*-[4-(4-fluoro-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]- imidoformamide,

5 - et/ou le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N'*-[4-(4-cyano-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]- imidoformamide,

- ainsi que les éventuels tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, acceptables dans le domaine pharmaceutique, de ces composés (I).

10 Selon un mode avantageux de réalisation de l'invention, le médicament antifongique comprend au moins un autre composé antifongique (II).

Un tel composé antifongique fait partie des composés connus de l'homme du métier et avantageusement choisi dans les familles de composés suivantes :

15 - les azoles, tels que le bifonazole, le butoconazole, le clotrimazole, l'eberconazole, l'econazole, le fenticonazole, le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole, le miconazole, l'oxiconazole, le posaconazole, le sulconazole, le terconazole, le tioconazole, le voriconazole, le zinoconazole;

20 - les polyènes, tels que l'amphotéricine B, la nystatine ;
- les allylamines et les benzylamines, telles que la buténafine, la naftifine, la terbinafine ;

- les thiocarbamates, tel que tolnaftate ;
- les candines, tel que la caspofungine, la cilofungine ;
- les analogues de nucléosides, tel que la flucytosine ;
- les sordarines ;
25 - les polyoxines et les nikkomycines, telles que la nikkomycines Z, J, pseudo J, PX, RZ, pseudo Z ;

- les pradimicines, telles que la pradimicine A ;
- les bénomycines ;
- les auréobasidines ;
30 - les UK-2A ou les UK-3A ;
- les peptides cationiques ;

pris seul ou en mélange, ainsi que leurs éventuels tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, leurs formulations lipidiques ou liposomales, acceptables dans le domaine pharmaceutique.

35 Sur le plan prépondéral, il convient de préciser que conformément à l'invention le rapport massique (I/II) se définit comme suit:

$$0,02 \leq I/II \leq 50$$

de préférence $0,1 \leq I/II \leq 20$

et plus préférentiellement encore $0,5 \leq I/II \leq 10$.

5 Dans le cas où le composé (II) correspond au fluconazole ou à l'itraconazole (ou à un de leurs équivalents), il a pu être trouvé que le rapport massique (I/II) est avantageusement compris entre 0,5 et 10.

10 Le rapport composé (I)/composé (II) est défini comme étant le rapport en poids de ces 2 composés. Il en est de même pour tout rapport de 2 composés chimiques, ultérieurement mentionné dans le présent texte, dans la mesure où une définition différente de ce rapport n'est pas expressément indiquée.

Dans les compositions selon l'invention, le rapport composé (I)/composé (II) est avantageusement choisi de manière à produire un effet synergique. Le terme effet synergique, tel qu'on l'entend dans le présente texte est défini dans les exemples au point 2.4.

15 Comme cela ressort de ce qui précède, les exemples préférés d'associations synergiques selon l'invention comprendront le composé (I), le fluconazole et/ou l'itraconazole, ainsi que leurs éventuels tautomères et sels d'addition a un acide ou une base, pour autant que ces équivalents soient acceptables dans le domaine pharmaceutique humain ou vétérinaire.

20 Les domaines de rapport composé (I)/composé (II) indiqués ci-dessus ne sont nullement limitatifs de la portée de l'invention, mais sont plutôt cités à titre indicatif, l'homme du métier étant tout à fait en mesure d'effectuer des essais complémentaires pour trouver d'autres valeurs du rapport de doses de ces deux composés, pour lesquels un effet synergique est observé.

25 Selon une disposition préférée de l'invention la quantité d'actifs (I/II) présents dans les compositions fongicides selon l'invention est comprise entre 0,5 et 99 % en poids.

Naturellement, les médicaments antifongiques selon l'invention à base d'au moins un composé (I) et d'au moins un composé (II) peuvent également comprendre un ou plusieurs autres produits actifs.

30 Outre ces actifs complémentaires, les médicaments antifongiques selon l'invention peuvent comporter également tout autre excipient et/ou auxiliaire utile dans les formulations pharmaceutiques.

35 S'agissant des présentations des médicaments selon l'invention, il y a lieu d'indiquer qu'ils se prêtent à toutes les formes galéniques connues et adaptées dans le traitement antifongique. Ainsi, ces médicaments peuvent se présenter sous forme de formulations pour l'administration par voie orale, topique, intraveineuse, intrapéritonéale.

S'agissant de la préparation des composés (I) on se référera à la demande de brevet internationale WO-00/46184.

Concernant la préparation des composés synergiques connus (II), ceux-ci sont préparés selon les règles habituelles de la pharmacopée.

5 Selon un autre de ces objets, l'invention se rapporte à un procédé de lutte, à titre curatif ou préventif, contre les champignons pathogènes humains ou animaux, caractérisé en ce qu'il consiste à utiliser un médicament antifongique tel que défini ci-dessus.

Les médicaments antifongiques selon l'invention contiennent habituellement de 0,5 à 99 % de la combinaison du composé (I) et du composé (II).

10

La dose optimale dépend bien évidemment du type de champignon pathogène à traiter et de la gravité de l'infection.

15 Les champignons pathogènes cibles du médicament antifongique sont notamment ceux pris dans l'ensemble comprenant :

- le groupe des Deuteromycètes et notamment *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Sporothrix schenckii*, *Coccidioides immitis* ;

20 • le groupe des Ascomycètes et notamment *Alternaria* spp, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Cladocephalosporium* spp, *Cladosporium* spp, *Epidermophyton floccosum*, *Exophiala dermatitis*, *Fonsecaea compacta*, *Fonsecaea pedroso*, *Fusarium* spp, *Histoplasma capsulatum capsulatum*, *Histoplasma capsulatum buboisi*, *Microsporum* spp, *Paecilomyces* spp, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Scedosporium apiospermum*, *Scedosporium prolificans*, *Scopulariopsis* spp, *Trichophyton*

25 *rubrum* ;

- le groupe des Basidiomycètes et notamment *Cryptococcus neoformans neoformans*, *Cryptococcus neoformans gati*.

30 Encore un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'au moins un composé de formule (I) tel que défini *supra*, pris seul ou combinaison avec un autre composé antifongique (II), pour la fabrication d'un médicament antifongique.

Avantageusement, le composé antifongique (II) est choisi dans les familles de composés antifongiques définis *supra*.

35

Encore un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'un médicament tel que défini ci-dessus, pour le traitement des infections d'origine fongique et notamment celles à *Candida albicans* ou *Aspergillus fumigatus*.

5 Les exemples suivants sont donnés à titre purement illustratifs de l'invention et ne la limitent en aucune façon.

EXEMPLES

10 MESURES IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE DIFFERENTS
COMPOSES UTILISES SEULS OU EN ASSOCIATION CONTRE *CANDIDA ALBICANS* ET
ASPERGILLUS FUMIGATUS

1 - OBJECTIF DES ESSAIS

15 Les essais ont pour objectif de tester l'efficacité d'un composé de type arylamidine, ainsi que deux composés antifongiques de la famille des azoles, le fluconazole et l'itraconazole, déjà commercialisés. Ces essais visent dans un premier temps à comparer l'activité antifongique du composé de type arylamidine, pris seul, à celle des azoles. Ils ont également pour but de mettre en évidence les propriétés synergiques des associations de tels composés.

20 2 - MATERIEL ET METHODES

2.1 - Souches et milieux :

25 Les champignons suivants ont été utilisés pour cette étude : *Candida albicans* souches IP 48.72 (ATCC 10231) et *Aspergillus fumigatus* souche IP 864.64 provenant de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur. Les souches sont cultivées sur un milieu agar Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YEPD) comprenant 0,5% d'extrait de levure, 0,5% de bacto-peptone, 2% de glucose et 2% d'agar à 30°C et à l'obscurité.

2.2 - Les produits testés sont :

30 COMPOSE (I.1) : *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N'*-[4-(4-chloro-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]-imidoformamide.

→ COMPOSE (I.2) : *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N'*-[4-(4-cyano-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]- imidoformamide.

35 → COMPOSE (II.1) : fluconazole.

→ COMPOSE (II.2) : itraconazole.

Tous ces composés ont été préparés dans une solution de DMSO à une concentration finale de 100mg/ml. Les solutions stocks sont conservées à -20°C jusqu'à utilisation.

2.3 – Milieu d'essai :

5

Les essais sont réalisés dans un milieu RPMI 1640 sans bicarbonate de sodium, mais avec de la L-glutamine tamponnée avec 0,165 mole par litre d'acide 3-[N-Morpholino]-propanesulfonique (MOPS), enrichi (« riche ») ou non (« minimal ») avec 2% de glucose. Le pH de ce milieu est ajusté à 7,0. Le milieu est stérilisé par filtration (0,22µm) et conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

10

2.4 - Mesure sur plaques de microtitration :

Tous les tests antifongiques sont réalisés sur plaques de microtitration. Les suspensions initiales de spores sont préparées dans une solution stérile à 0,85% de NaCl, supplémenté en Tween 80 à 0,01%. Ces suspensions initiales sont ensuite diluées dans le milieu de culture (RPMI 1640 enrichi ou non avec 2% de glucose) à une concentration finale de 10^4 spores par ml. Les mesures de viabilité de chaque inoculum sont vérifiées par des sous-cultures d'un volume de 300 µl sur milieu agar YEPD.

20

Les composés antifongiques sont testés dans une gamme de concentrations allant de 0,026 à 100 µg de matière active/ml. Ces composés antifongiques sont ensuite dilués dans le milieu RPMI 1640 enrichi ou non à 2% de glucose. Une concentration finale de DMSO de 0,2% est utilisée tout au long des mesures. Chaque essai est effectué sur une série de dilutions de composés antifongiques, en doublet. Les dilutions d'antifongiques (0,1 ml) et l'inoculum fongique (0,1 ml) sont ajoutés dans chacun des puits de la plaque de microtitration. Les plaques sont lues avec un spectrophotomètre (ELX 800UV Bio-Tek Instruments, Inc) à une longueur d'ondes de 590 nm. Les plaques sont lues immédiatement après inoculation ($t = 0$) et après 48 heures d'incubation à 30°C et à l'obscurité. Les valeurs de densité optique obtenues sont corrélées à la croissance fongique entre les temps $t = 0$ et $t = 48$ heures. Les valeurs de densité optique sont utilisées pour calculer le pourcentage d'inhibition de la croissance pour chaque concentration d'antifongiques par comparaison avec le contrôle. Les valeurs sont alors utilisées pour tracer une courbe dose-réponse et la valeur de l' EC_{50} est déterminée pour chaque champignon et chaque composé à l'aide du logiciel Grafit 5.0® (Erithacus software Ltd).

30

La méthode qui a été utilisée pour mesurer le type d'interaction existant entre les composés antifongiques en mélanges est la méthode de Wadley.

35

Dans l'approche de Wadley, la courbe dose-réponse de chacun des composés A et B, et du mélange AB est construite. L'EC₅₀ est calculée pour chaque composé pris individuellement et pour le mélange. Si a et b sont les quantités absolues des composés A et B dans le mélange (a=1, b=1, a + b = 2 dans nos conditions), la concentration efficace attendue (EC_{50exp}) peut être calculée de la manière suivante :

$$EC_{50exp} = (a + b) / [a/EC_{50A} + b/(EC_{50B})]$$

- 10 L'approche de Wadley peut être utilisée pour estimer le type d'interaction existant entre les composés fongicides, quelle que soit leur concentration. Sa fiabilité n'est pas dépendante du pourcentage d'inhibition. Le type d'interaction entre deux composés est donné par le niveau de l'interaction (NI) qui correspond au ratio entre la concentration efficace attendue (EC_{50exp}) et celle observée (EC_{50obs}) du mélange. La nature de l'interaction obtenue par la formule
- 15 de Wadley est présentée dans le tableau 1 (voir U. Gisi, Synergistic interaction in fungicide mixtures, 1996. *Phytopathology* **86**, 1273-1279) ci-dessous.

Niveau d'interaction	Définition mathématique	Définition biologique
<1	Antagoniste	
1	Additive	
>1	Synergique	
<0,5		Antagoniste
0,5 - 1		Additive
>1,5		Synergique

3 - RESULTATS

20

Tableau 1 : Efficacité *in vitro* du composé I.1, du composé II.1 et du composé II.2 utilisés seuls contre *Aspergillus fumigatus* cultivé sur milieu minimal RPMI 1640 (MM).

% inhibition ^α	Dose (µg/ml)						
	0,026	0,098	0,39	1,562	6,25	25	100
Composé I.1	1	57,9	80,1	94,6	97,1	98,4	98,1
Composé II.1	4,8	4,8	5,8	8,7	7,7	23,1	41,4
Composé II.2	2,2	31,8	49,3	99,6	100	100	99

- 25 ^α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30°C et à l'obscurité.

Tableau 2 : Efficacité *in vitro* du composé I.1, du composé II.1 et du composé II.2 utilisés seuls contre *Aspergillus fumigatus* cultivé sur milieu riche RPMI 1640 (MR).

5

% inhibition ^α	Dose (µg/ml)						
	0,026	0,098	0,39	1,562	6,25	25	100
Composé I.1	2,24	23,1	51,1	97,4	98,1	98,1	97,4
Composé II.1	11,2	20,7	25,9	27,6	28,4	48,3	46,6
Composé II.2	18,6	47,5	88,6	99,2	100	100	100

^α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30°C et à l'obscurité.

Tableau 3 : Efficacité *in vitro* du composé I.1, du composé II.1 et du composé II.2 utilisés seuls contre *Candida albicans* cultivé sur milieu minimal RPMI 1640 (MM).

10

% inhibition ^α	Dose (µg/ml)						
	0,026	0,098	0,39	1,562	6,25	25	100
Composé I.1	4,6	7	46,1	96,2	98,7	99,2	98,1
Composé II.1	2,1	9,7	38,5	64,7	77,7	81,9	91,6
Composé II.2	58,1	75,4	78,2	74,6	78,6	87,9	95,2

^α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30°C et à l'obscurité.

15

Tableau 4: Efficacité *in vitro* du composé I.1, du composé II.1 et du composé II.2 utilisés seuls contre *Candida albicans* cultivé sur milieu riche RPMI 1640 (MR).

% inhibition ^α	Dose (µg/ml)						
	0,026	0,098	0,39	1,562	6,25	25	100
Composé I.1	12,6	27,3	43,6	96,9	99,5	99,5	98,8
Composé II.1	11,1	32,5	72,6	86,8	94	95,3	36,1
Composé II.2	44,7	85,1	86,2	85,1	86,2	95,2	95,2

^α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30°C et à l'obscurité.

20

Tableau 5: Efficacité^α *in vitro* du composé I.1, du Composé II.1 et du composé II.2 utilisés seuls contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* cultivés sur un milieu RPMI 1640 minimal (MM) et sur un milieu riche RPMI 1640 (MR).

5

Fongicide	EC ₅₀ (µg/ml)			
	<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Candida albicans</i>	
	MM	MR	MM	MR
Composé I.1	0,1	0,31	0,41	0,3
Composé II.1	575 ^β	125 ^β	0,96	0,19
Composé II.2	0,27	0,27	0,022	0,017

α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30 °C à l'obscurité.

β Ces EC₅₀ sont extrapolées à partir de l'analyse des courbes dose-réponse obtenues à l'aide du logiciel Grafit 5.0[®].

10

Tableau 6: Evaluation *in vitro* de l'importance de l'interaction entre le composé I.1, le composé II.1 et le composé II.2 en utilisant la formule de Wadley contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* cultivés sur milieu minimal (MM) et milieu riche RPMI 1640 (MR).

Fongicide	<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Candida albicans</i>	
	MM	MR	MM	MR
Mélange I.1 + II.1				
EC _{50 obs}	0,200	0,122	0,225	0,451
EC _{50 exp}	0,21	0,62	0,573	0,223
N.I. ^α	1,06	5,09	2,54	0,494
Mélange I.1 + II.2				
EC _{50 obs}	0,270	0,175	0,112	0,129
EC _{50 exp}	0,15	0,292	0,042	0,032
N.I.	0,56	1,67	0,376	0,25

15

α Le niveau d'interaction (N.I.) correspond au ratio de la concentration efficace attendue (EC_{50 exp}) sur la concentration efficace observée (EC_{50 obs}) du mélange. L'interaction synergique est présente lorsque le niveau d'interaction est supérieur à 1,5 (valeurs en gras).

4 - CONCLUSIONS

Les différents résultats obtenus et présentés ci-dessus démontrent l'efficacité du composé I.1, que ce soit sur milieu RPMI 1640 minimal (MM) ou sur milieu riche (MR), contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* avec des EC₅₀ comprise entre 0,1 et 0,5 µg/ml, et donc ayant une activité équivalente à l'itraconazole (composé II.2) contre *Aspergillus fumigatus* et une

5 activité au moins équivalente au fluconazole (composé II.1) contre *Candida albicans*.
En ce qui concerne les interactions entre composés, les résultats obtenus par la méthode de Wadley montrent que l'association du composé I.1 et du fluconazole (composé II.1) présente des effets synergiques surprenants tant vis à vis d'*Aspergillus fumigatus* que de *Candida albicans*. Le médicament antifongique selon l'invention constitue donc une réelle avancée en

10 terme d'amélioration de l'activité antifongique par rapport aux références du marché.

Lors d'une seconde étude le composé I.2 selon l'invention a été testé. Il s'agit du : *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N*-[4-(4-cyano-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]- imidoformamide

Le composé (I.1) selon l'invention ainsi que le fluconazole (II.1) et l'itraconazole (II.2) ont également été testés *in vitro* sur *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* en milieu enrichi.

Les conditions expérimentales sont les mêmes que précédemment décrites.

Résultats

Tableau 1. Efficacité^α *in vitro* des composés I.1, I.2, II.1 et II.2, utilisés seuls contre *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* en milieu RPMI 1640 enrichi à 2% de glucose.

20

Fungicide	EC ₅₀ ^λ (µg/ml)	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	IP 48.72 ^β	IP 864.64 ^β
Compound I.1	0,635	0,179
Compound I.2	0,205	0,088
Compound II.1	0,354	125
Compound II.2	0,082	0,187

^α Le pourcentage d'inhibition de la croissance est déterminé après 48 heures d'incubation à 30°C et dans l'obscurité.

^β Les souches IP48.72 et IP864.64 ont servi de références pour ces expériences.

^λ Ces EC₅₀ sont déterminées après analyses des courbes dose-réponse obtenues au moyen du logiciel Grafit 5.0[®].

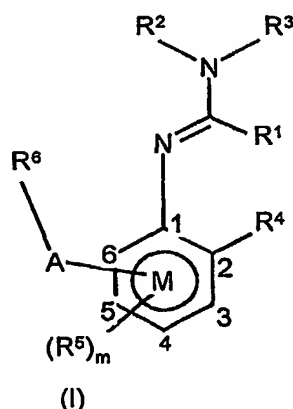
25

Sur *Candida albicans*, l'EC₅₀ du composé I.1 est 1,8 et 7,7 fois supérieure à celle des composés II.1 et II.2, tandis que le composé I.2 montre une meilleure efficacité *in vitro* contre *Candida albicans* que les composés I.1 et II.1.

Sur *Aspergillus fumigatus* (IP 864.64), l' EC_{50} du composé I.1 est environ 700 fois inférieure à celle du composé II.1 et similaire à celle du composé II.2, tandis que le composé I.2 montre une efficacité *in vitro* sur *Aspergillus fumigatus* 2 fois supérieure à celle des composés I.1 et II.2.

REVENDICATIONS

- 5 1. Médicament antifongique caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé de formule (I) :



- 10 dans laquelle :

- R^1 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou l'hydrogène;
 - R^2 et R^3 , qui peuvent être identiques ou différents, sont l'un quelconque des groupements définis pour R^1 ; un cyano; un acyle; $-OR^a$ ou $-SR^a$, avec R^a correspondant à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou R^2 et R^3 , ou R^2 et R^1 peuvent former ensemble et avec les atomes qui les relient, un cycle pouvant être substitué;
 - R^4 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un groupement hydroxyle; mercapto; azido; nitro; halogène; cyano; acyle substitué ou non substitué, amino; cyanato; thiocyanato; $-SF_5$; $-OR^a$; $-SR^a$ ou $-Si(R^a)_3$;
 - $m = 0, 1, 2$ ou 3 ;
 - l'éventuel R^5 ou les éventuels R^5 , qui peuvent être identiques ou différents entre eux, répondent à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^4 ;
 - R^6 est un groupement carbocyclique ou hétérocyclique substitué ou non substitué; et
 - A est une liaison directe, $-O-$, $-S(O)_n-$, $-NR^9-$, $-CR^7=CR^7-$, $-C\equiv C-$, $-A^1-$, $-A^1-A^1-$, $-O-(A^1)_K-O-$, $-O-(A^1)_K-$, $-A^3-$, $-A^4-$, $-A^1O-$, $-A^1S(O)_n-$, $-A^2-$, OA^2- , $-NR^9A^2-$, $-OA^2-A^1-$, $-OA^2-C(R^7)=C(R^8)-$, $-S(O)_nA^1-$, $-A^1-A^4-$,
- 30

$-A^1-A^4-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-$, $-A^1-A^4-A^3-$,
 $-A^1-A^4-N(R^9)-$, $-A^1-A^4-X-CH_2-$, $-A^1-A^4-A^1-$, $-A^1-A^4-CH_2X-$,
 $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-X^1-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-$,
 $-A^1-X-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-N(R^9)-$, $-A^1-X-A^1-X^1-$,
5 $-A^1-O-A^3-$, $-A^1-O-C(R^7)=C(R^8)-$, $-A^1-O-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$,
 $-A^1-O-N(R^9)-A^2-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-$,
 $-A^1-N(R^9)-N=C(R^8)-$, $-A^3-A^1-$, $-A^4-A^3-$, $-A^2-NR^9-$,
 $-A^1-A^2-X^1-$, $-A^1-A^1-A^2-X^1-$, $-O-A^2-N(R^9)-A^2-$, $-CR^7=CR^7-A^2-X^1-$,
10 $-C\equiv C-A^2-X^1-$, $-N=C(R^8)-A^2-X^1-$, $-C(R^8)=N-N=C(R^8)-$,
 $-C(R^8)=N-N(R^9)-$, $-(CH_2)_2-O-N=C(R^8)-$ ou $-X-A^2-N(R^9)-$

avec

$n = 0, 1$ ou 2 ,

$k = 1$ à 9 ,

$A^1 = -CHR^7-$,

15 $A^2 = -C(=X)-$,

$A^3 = -C(R^8)=N-O-$,

$A^4 = -O-N=C(R^8)-$,

$X = O$ ou S ,

$X^1 = O, S, NR^9$ ou une liaison directe,

20 $X^2 = O, NR^9$ ou une liaison directe,

$X^3 = \text{hydrogène}, -C(=O)-, -SO_2-$ ou une liaison directe,

R^7 , identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un cycloalkyle ou un phényle, chacun de ces groupements pouvant être substitué, l'hydrogène, un halogène, un cyano, ou un acyle;

25 R^8 , identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un alcoxy, un alkylthio, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou l'hydrogène;

30 R^9 , identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou à un acyle; ou deux groupements R^9 peuvent former ensemble et avec les atomes qui les relient, un cycle à 5-7 chaînons;

le groupement représenté sur le côté droit de la liaison A est relié à R^6 ;

35 ou $-A-R^6$ et R^5 forment ensemble avec le cycle benzène M, un système de cycles condensés substitués ou non substitués;

▪ ainsi que les éventuels isomères optiques et/ou géométriques, tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, acceptables dans le domaine pharmaceutique, de ces dérivés de formule (I);

▪ et leurs mélanges.

5

2. Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce que :

• R¹ est un alkyle, un alcényle ou un alcynyle, chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol par un halogène, ou l'hydrogène;

10

• R² et R³ qui peuvent être identiques ou différents, et qui répondent à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R¹ ou qui correspondent à un alcoxy, un alcoxyalkyle, un benzyloxy, un cyano ou un alkylcarbonyle;

15

• R⁴ est un alkyle, un alcényle ou un alcynyle, chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol ou par un halogène; un hydroxyle; un halogène; un cyano; un acyle, une amine, une monoalkylamine, une dialkylamine ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, ou par un alkylthiol;

20

• m = 0 ou 1;

• quand il est présent, R⁵ est un groupement répondant à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R⁴.

25

• A est une liaison directe, -O-, -S-, -NR⁹-, -CHR⁷- ou -O-CHR⁷-,

avec R⁹, quand il est présent correspondant à un alkyle, un alcényle ou un alcynyle, chacun de ces groupements pouvant être substitué par un alcoxy, un haloalcoxy, un alkylthiol, un halogène ou un phényle substitué ou non substitué par un alkyle, par un haloalkyle, par un alcoxy, par un haloalcoxy, par un alkylthiol ou par un halogène, ou correspond à l'hydrogène ;

30

et R⁷ répond à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R⁹ ou représente un hydroxyle; un halogène; un cyano; un acyle; alcoxy; un haloalcoxy ou un alkylthiol;

• A est relié à la position 4 du cycle benzène M; et

35

• R⁶ est un phényle ou un hétérocycle aromatique, substitué ou non substitué par un ou plusieurs substituants, identiques ou différents entre eux, et qui peuvent être sélectionnés dans la liste suivante: hydroxyle; halogène; cyano; acyle; amine; alkylamine; dialkylamine; alkyle, haloalkyle, R^aO-alkyle, acyloxyalkyle, cyanoxyalkyle, alcoxy; haloalcoxy; alkylthiol; cycloalkyle substitué ou non substitué par un alkyle, un haloalkyle, un alcoxy, un haloalcoxy ou par un

alkylthiol; et benzyle substitué ou non substitué par un alkyle, un haloalkyle, un alcoxy, un haloalcoxy ou par un alkylthiol.

3. Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce que :

- 5
- $R^1 = H$
 - $R^2 =$ alkyle en C_1-C_6 , de préférence éthyle;
 - $R^3 =$ alkyle en C_1-C_6 , de préférence méthyle;
 - $R^4 =$ alkyle en C_1-C_6 , de préférence méthyle;
 - $R^5 =$ alkyle en C_1-C_6 , de préférence méthyle et R^5 est relié au carbone
- 10 en C_5 du cycle benzyle M, avec $m=1$;
- A est relié au carbone en C_4 du cycle benzyle M et représente $-O-$;
 - $R^6 =$ aryle, de préférence benzyle, avantageusement substitué par au moins un alkyle et/ou par au moins un halogène.

4. Médicament selon la revendication 3, caractérisé en ce que le composé (I) est :

- 15
- le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N*-[4-(4-chloro-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]-imidoformamide,
 - et/ou le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N*-[4-(4-fluoro-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]-imidoformamide,
- 20
- et/ou le *N*-éthyl-*N*-méthyl-*N*-[4-(4-cyano-3-trifluorométhylphénoxy)-2,5-diméthylphényl]-imidoformamide,
- ainsi que les éventuels tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, acceptables dans le domaine pharmaceutique, de ces composés (I).

5. Médicament selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il comprend en outre au moins un autre composé antifongique (II).

6. Médicament selon la revendication précédente, caractérisé en ce que le composé antifongique (II) est choisi dans les familles d'antifongiques suivantes :

- 30
- les azoles, tels que le bifonazole, le butoconazole, le clotrimazole, l'eberconazole, l'econazole, le fenticonazole, le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole, le miconazole, l'oxiconazole, le posaconazole, le sulconazole, le terconazole, le tioconazole, le voriconazole, le zinoconazole;
 - les polyènes, tels que l'amphotéricine B, la nystatine ;
- 35
- les allylamines et les benzylamines, telles que la buténafine, la naftifine, la terbinafine ;
 - les thiocarbamates, tel que tolnaftate ;

- les candines, tel que la caspofungine, la cilofungine ;
- les analogues de nucléosides, tel que la flucytosine ;
- les sordarines ;
- les polyoxines et les nikkomycines, telles que la nikkomycines Z, J, pseudo J, PX,

5 RZ, pseudo Z ;

- les pradimicines, telles que la pradimicine A ;
- les bénanomycines ;
- les auréobasidines ;
- les UK-2A ou les UK-3A ;
- les peptides cationiques ;

10

pris seul ou en mélange, ainsi que leurs éventuels tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, leurs formulations lipidiques ou liposomales, acceptables dans le domaine pharmaceutique.

15

7. Médicament antifongique selon la revendication 4 ou 5, caractérisé en ce que le rapport massique (I/II) se définit comme suit:

	0,02	$\leq I/II \leq 50$
de préférence	0,1	$\leq I/II \leq 20$
et plus préférentiellement encore	0,5	$\leq I/II \leq 10$

20

8. Médicament antifongique selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce que le rapport composé (I)/composé (II) est choisi de manière à produire un effet synergique.

25

9. Médicament antifongique selon la revendication précédente, caractérisé en ce que le rapport composé (I)/composé (II) est compris entre 0,5 et 10.

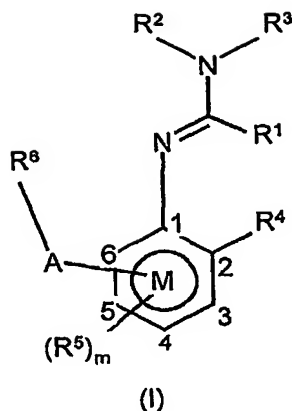
10. Médicament antifongique selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend en outre au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

30

11. Médicament antifongique selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend de 0,5 à 99% de la combinaison du composé (I) et du composé (II).

12. Utilisation, pour la fabrication d'un médicament antifongique, d'au moins un composé de formule (I)

35



dans laquelle :

- R^1 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou l'hydrogène;
- R^2 et R^3 , qui peuvent être identiques ou différents, sont l'un quelconque des groupements définis pour R^1 ; un cyano; un acyle; $-OR^a$ ou $-SR^a$, avec R^a correspondant à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, ou R^2 et R^3 , ou R^2 et R^1 peuvent former ensemble et avec les atomes qui les relient, un cycle pouvant être substitué;
- R^4 est un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un groupement hydroxyle; mercapto; azido; nitro; halogène; cyano; acyle substitué ou non substitué, amino; cyanato; thiocyanato; $-SF_5$; $-OR^a$; $-SR^a$ ou $-Si(R^a)_3$;
- $m = 0, 1, 2$ ou 3 ;
- l'éventuel R^5 ou les éventuels R^5 , qui peuvent être identiques ou différents entre eux, répondent à la même définition que celle donnée ci-dessus pour R^4 ;
- R^6 est un groupement carbocyclique ou hétérocyclique substitué ou non substitué; et
- A est une liaison directe, $-O-$, $-S(O)_n-$, $-NR^9-$, $-CR^7=CR^7-$, $-C\equiv C-$, $-A^1-$, $-A^1-A^1-$, $-O-(A^1)_k-O-$, $-O-(A^1)_k-$, $-A^3-$, $-A^4-$, $-A^1O-$, $-A^1S(O)_n-$, $-A^2-$, OA^2- , $-NR^9A^2-$, $-OA^2-A^1-$, $-OA^2-C(R^7)=C(R^8)-$, $-S(O)_nA^1-$, $-A^1-A^4-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-$, $-A^1-A^4-A^3-$, $-A^1-A^4-N(R^9)-$, $-A^1-A^4-X-CH_2-$, $-A^1-A^4-A^1-$, $-A^1-A^4-CH_2X-$, $-A^1-A^4-C(R^8)=N-X^2-X^3-X^1-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-N=CR^8-$, $-A^1-X-C(R^8)=N-N(R^9)-$, $-A^1-X-A-X^1-$, $-A^1-O-A^3-$, $-A^1-O-C(R^7)=C(R^8)-$, $-A^1-O-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$, $-A^1-O-N(R^9)-A^2-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-N(R^9)-$, $-A^1-N(R^9)-A^2-$, $-A^1-N(R^9)-N=C(R^8)-$, $-A^3-A^1-$, $-A^4-A^3-$, $-A^2-NR^9-$,

-A¹-A²-X¹-, -A¹-A¹-A²-X¹-, -O-A²-N(R⁹)-A²-, -CR⁷=CR⁷-A²-X¹-,
 -C≡C-A²-X¹-, -N=C(R⁸)-A²-X¹-, -C(R⁸)=N-N=C(R⁸)-,
 -C(R⁸)=N-N(R⁹)-, -(CH₂)₂-O-N=C(R⁸)- ou -X-A²-N(R⁹)-

avec

5

n = 0, 1 ou 2,

k = 1 à 9,

A¹ = -CHR⁷-,

A² = -C(=X)-,

A³ = -C(R⁸)=N-O-,

10

A⁴ = -O-N=C(R⁸)-,

X = O ou S,

X¹ = O, S, NR⁹ ou une liaison directe,

X² = O, NR⁹ ou une liaison directe,

X³ = hydrogène, -C(=O)-, -SO₂- ou une liaison directe,

15

R⁷, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un cycloalkyle ou un phényle, chacun de ces groupements pouvant être substitué, l'hydrogène, un halogène, un cyano, ou un acyle;

R⁸, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle, un alcényle, un alcynyle, un alcoxy, un alkylthio, chacun de ces groupements pouvant être substitué, un
 20 groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou l'hydrogène;

R⁹, identiques ou différents entre eux, correspondent chacun à un alkyle substitué ou non substitué, à un groupement monovalent carbocyclique ou hétérocyclique qui peut être substitué ou non substitué, ou à un acyle; ou deux groupements R⁹ peuvent former ensemble et
 25 avec les atomes qui les relient, un cycle à 5-7 chaînons;

le groupement représenté sur le côté droit de la liaison A est relié à R⁶;

ou -A-R⁶ et R⁵ forment ensemble avec le cycle benzène M, un système de cycles condensés substitués ou non substitués;

30

▪ ainsi que les éventuels isomères optiques et/ou géométriques, tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, acceptables dans le domaine pharmaceutique, de ces dérivés de formule (I);

▪ et leurs mélanges.

35

ledit composé (I) étant pris seul ou en combinaison avec un autre composé antifongique (II).

13. Utilisation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que le composé antifongique (II) est choisi dans les familles d'antifongiques suivantes :

- les azoles, tels que le bifonazole, le butoconazole, le clotrimazole, l'eberconazole, l'econazole, le fenticonazole, le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole, le miconazole, l'oxiconazole, le posaconazole, le sulconazole, le terconazole, le tioconazole, le voriconazole, le zinoconazole;
 - les polyènes, tels que l'amphotéricine B, la nystatine ;
 - les allylamines et les benzylamines, telles que la buténafine, la naftifine, la terbinafine ;
 - les thiocarbamates, tel que tolnaftate ;
 - les candines, tel que la caspofungine, la cilofungine ;
 - les analogues de nucléosides, tel que la flucytosine ;
 - les sordarines ;
 - les polyoxines et les nikkomycines, telles que la nikkomycines Z, J, pseudo J, PX, RZ, pseudo Z ;
 - les pradimicines, telles que la pradimicine A ;
 - les bénanomycines ;
 - les auréobasidines ;
 - les UK-2A ou les UK-3A ;
 - les peptides cationiques ;
- pris seul ou en mélange, ainsi que leurs éventuels tautomères et sels, notamment d'addition à un acide ou une base, leurs formulations lipidiques ou liposomales, acceptables dans le domaine pharmaceutique.

14. Utilisation d'un médicament antifongique selon l'une des revendications 1 à 11, pour le traitement des infections à *Candida albicans*.

15. Utilisation d'un médicament antifongique selon l'une des revendications 1 à 11, pour le traitement des infections à *Aspergillus fumigatus*.

Abrégé descriptif

- 5 La présente invention a pour objet de nouveaux médicaments antifongiques à base de dérivés de N₂-phénylamidine et éventuellement d'au moins un agent synergique anti-fongique.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☒ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.